Aus der Klinik und Poliklinik für Kieferchirurgie
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. Dr. J. Reuther

DIE KNOCHENHEILUNG OSTEOTOMIERTER UND MIT PLATTEN WIEDER OSTEOSYNTHETISIERTER MEERSCHWEINCHENFEMURA NACH VERMEHRTER EIWEISSGABE

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

verfaßt und der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Roland Leistner
aus Rotthalmünster

1982

Würzburg, den 11.6.1981

Aus der Klinik und Poliklinik für Kieferchirurgie
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. Dr. J. Reuther

DIE KNOCHENHEILUNG OSTEOTOMIERTER UND MIT PLATTEN WIEDER OSTEOSYNTHETISIERTER MEERSCHWEINCHENFEMURA NACH VERMEHRTER EIWEISSGABE

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

verfaßt und der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Roland Leistner
aus Rotthalmünster

Würzburg, den 11.6.1981

Referent:	Professor Dr. G. Schargus
Korreferent:	Professor Dr. Dr. J. Reuther
Dekan:	Professor Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 19.2.1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
A. LITERATURÜBERBLICK	2
B. EXPERIMENTELLER TEIL	
1. Untersuchungsmaterial	4
2. Operationsvorbereitung	6
3. Operation	7
4. Postoperative Nachbehandlung	9
C. ERGEBNISSE	
1. Allgemeine Aussagen	13
2. Röntgenbefunde	13
3. Histologische Auswertung (2. - 11. Woche)	16
D. DISKUSSION	35
E. ZUSAMMENFASSUNG	39
LITERATURVERZEICHNIS	40

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543522_0054

EINLEITUNG

Nach einem chirurgischen Eingriff oder nach einem Trauma kommt es im Organismus zu größeren Eiweißverlusten.
Durch das Trauma erfolgt eine vermehrte Ausscheidung von Stickstoff in Harn, Stuhl und Sekreten. Daraus leicht Heilungsstörungen resultieren können (1,2) erhöhte Clark schon 1919 im Tierexperiment die Eiweißzufuhr und erzielte dadurch eine Wundheilungsbeschleunigung.
Die Abhängigkeit der Knochendefektheilung am Femur unter dem Einfluß verschieden eiweißhaltiger Kost untersuchten SCHARGUS et al. (3) sowie BILLO (4) und stellten bei erhöhtem Eiweißangebot eine beschleunigte Heilung fest. Nach diesen Voruntersuchungen von BILLO (4) und HERREINER (23) soll in der vorliegenden Arbeit die Heilung von Osteotomien an Meerschweinchenfemura nach Fragmentfixation mit einer Stabilisationsplatte unter vermehrter Eiweißgabe untersucht werden.
Die zeitliche Festlegung der Heilungsvorgänge nach der Osteotomie soll durch fluoreszenzmikroskopische und röntgenologische Auswertung der Femura erfolgen.

A. LITERATURÜBERBLICK

Posttraumatisch kommt es nach THORNTON (5) et al. zu einer Abnahme der Plasmaproteinkonzentration um 10g/l, die bis zu 45 Tagen andauert. (BROWNE (6)) HARTIG (7) gibt den Gesamteiweißverlust bei Frakturen der langen Röhrenknochen mit 86g/24Std. an.
Der Eiweißverlust nach Traumen kann sowohl durch verstärkten Eiweißkatabolismus als auch durch Exsudation, anhaltende Blutungen, Erbrechen oder Diarrhöen eintreten (CUTHBERTSON (8)). Die Messung erfolgt über die vermehrte Stickstoffausscheidung im Urin. Nach Frakturen kommt es zu einem Stickstoffverlust von bis zu 25g pro Tag (CUTHBERTSON (8)).
FÜRST (9) und Mitarbeiter berichten von einem Anstieg der Abbaurate von Stickstoff im Muskelgewebe mit zunehmendem Streßgrad. Dies konnte durch Einbeziehung von isotopem Stickstoff (^{15}N) im Muskelgewebe gezeigt werden. Durch Erhöhung des Proteingehalts in der Nahrung konnte die Stickstoffbilanz deutlich verbessert werden.
Zur Erhöhung bzw. Stabilisierung des Eiweißstoffwechsels empfahlen MADDEN und WHIPPLE (10) entrahmtes Milchpulver mit 37% Proteingehalt als Zusatzkost zu verabreichen. ELMAN (11) schlägt vor, das Eiweiß als hydrolisiertes Protein oral oder parenteral zuzuführen.
BELOUS und PANKOV (12) brachten mit Ribonucleinsäure Knochendefekte schneller zum Abheilen.
ALLEN und HARRISON (13) regten durch Amino - Acetonitril die Proliferation von osteogenetischen Zellen an und beschleunigten dadurch die Regeneration nach Rippenresektion an Ratten.
FANTATO (14) beschleunigte die Heilung bei Kaninchenfrakturen mit Adenosintriphosphorsäure und Phosphorcreatin.

Eine schnellere knöcherne Heilung von Tibia- und Fibulafrakturen bei älteren Menschen erzielten MILLST, DAVIS und BROADHURST (15) mit dem Knochenextrakt OSSOPAN^{R}.
Chondroitinsulfat bewirkte bei Hunden eine raschere Knochenbildung in Alveolen nach Zahnextraktionen, MOSS, KRÜGER und REYNOLDS (16).
CURRI und CAMPAILLA (17) stimulierten durch direkte Infiltration von Hyaluronsäure die chondroplastische Differenzierung bei Knochendefekten an Ratten.
MAZHUGA und BATYUK (18) injizierten Tieren mit Knochenfrakturen Zellen aus osteogenetischen Wachstumszonen und regten durch die Antigene die Knochenbildung an.
In klinischen Versuchen wurde von SCHOTT, SCHRÖDER und MAIWALD (19) der Einfluß von eiweißreicher Nahrung auf die Heilungstendenz von Frakturen im Gesichtsbereich untersucht.
Erprobt wurde dabei die Wirksamkeit eines 55% Eiweiß enthaltenden Präparates an 71 Patienten. Es wurde bei ihnen aus therapeutischen Gründen eine Durchtrennung des Unterkieferknochens im Sinne einer Progenieoperation vorgenommen oder es war durch Trauma zu Frakturen im Gesichtsbereich gekommen. Die Heilungstendenz der Frakturen zwischen einer Patientengruppe mit Normalkost und Patienten, die zusätzlich zu der in der Klinik üblichen Kost hochwertiges Protein (TISSAN^{R}) erhielten, wurde im Röntgenbild verglichen. Dabei zeigte sich, daß bei Ernährung mit hochwertigem Protein eine Beschleunigung der Stabilisierung und Mineralisation zu beobachten ist.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Untersuchungsmaterial

Als Versuchstiere wurden 30 Meerschweinchen verschiedenen Geschlechts mit einem Gewicht zwischen 360 und 440 Gramm verwendet. Vor der Operation wurden alle Tiere während einer etwa 3-wöchigen Eingewöhnungszeit, mit einer Standardkost (HERILAN) ernährt. Die Tiere wurden in zwei Kollektive eingeteilt.
Das I.Kollektiv, 10 Tiere, erhielt Standardkost mit einem Proteinanteil von 16%.
Das II.Kollektiv, 20 Tiere, bekam eine eiweißreiche Kost mit einem Rohproteingehalt von 40%.

Das Standardfutter hatte folgende Zusammensetzung:

Gehalt an Rohstoffen:
(% der lufttrockenen Substanz)

Rohprotein	16
Rohfett	4
Rohfaser	12

Gehalt an Mineralien und Spurenelementen:

(% der lufttrockenen Substanz)		g/kg Fertigfutter	
Ca	1,0	Fe min.	0,15
P	0,8	Mn min.	0,08
Na	0,25	Cu min.	0,02
K	1,3	Zn min.	0,05
Mg	0,4		

Vitaminzusatz pro kg Fertigfutter

Vitamin A	10 000 I.E.	Ca-Pantothenat	40 mg
Vitamin D_3	400 I.E.	Nikotinsäureamid	40 mg
Vitamin E	150 mg	Cholinchlorin	1 000 mg
Vitamin K_3	10 mg	Folsäure	5 mg
Vitamin C	2 000 mg	Inosit	5 mg
Vitamin B_1	20 mg	Biotin	80 mcg
Vitamin B_2	30 mg		
Vitamin B_6	20 mg		
Vitamin B_{12}	30 mcg		

Durchschnittlicher Gehalt an Aminosäuren:
(Angaben in g AS / kg Futter)

Alanin	3,2	Lysin	6,9
Arginin	19,3	Methionin	3,3
Asparaginsäure	4,1	Phenylalanin	4,0
Cystin	11,1	Prolin	4,7
Histidin	8,9	Serin	2,8
Iso-Leucin	14,7	Threonin	14,3
Leucin	27,8	Tryptophan	5,2
Glutaminsäure	11,3	Tyrosin	20,9
Glycin	19,5	Valin	19,4

Diese Mischung enthält mit 16% Eiweißanteil den normalen Proteingehalt, der im I. Kollektiv verfüttert wurde. Der gesteigerte Proteingehalt des II. Kollektivs wurde durch Anreicherung mit einem Eiweißpräparat (TISSAN^{R}) erzielt.

2. Operationsvorbereitung

12-14 Stunden vor dem operativen Eingriff wurde den Tieren das Futter entzogen. Vor der Operation wurden die Tiere gewogen und die Menge des Anästhetikums bestimmt.
Zur Prämedikation diente ROMPUN^{R} (2,6 Xylidino - 5,6 dihydro 4H - 1,3 thiazin-hydrochlorid), das in einer Verdünnung von 1:9 in physiologischer Kochsalzlösung intramuskulär injiziert wurde. Als Narkotikum wurde NEMBUTAL^{R} (5 Äthyl-5; 1 methylbutylbarbitursaures Natrium) in einer Verdünnung von 1:4 mit physiologischer Kochsalzlösung verwendet.
Die Applikation erfolgte intraperitoneal mit 0,25 ml/100g Körpergewicht. Eine ausreichende Narkosetiefe trat in etwa 10 Minuten ein. Nach Eintritt der Narkose wurde das Operationsfeld enthaart. Wir verwendeten dazu eine Lösung von Bariumsulfat 125,0; Zink-Oxyd 125,0 und Amyl. Triciti 250,0 in Leitungswasser. Um den Nembutalbedarf möglichst gering zu halten wurde in das OP-Gebiet eine 1% Lösung von NOVOCAIN^{R} mit einem Zusatz von Adrenalin 1 : 1 000, (KASTENBAUER und REICHERT (20)) infiltriert. Anschließend wurde das Tier auf dem OP-Tisch fixiert und mit einem sterilen Lochtuch abgedeckt.

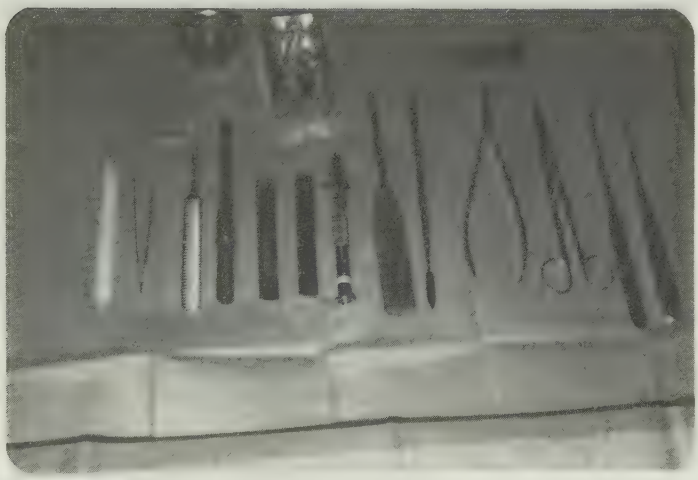

Abb. 1 Instrumentarium

3. Operation

Zunächst wurde die Haut und die Muskulatur mit dem Skalpell durchtrennt. Anschließend wurde der rechte Femur in seiner ganzen Länge bis zu den Gelenkkapseln dargestellt. (Abb.2)
Nachdem das Periost durchtrennt und entsprechend mobilisiert worden war, wurde der Femur in der Mitte mit einer Kreissäge osteotomiert. Um Knochennekrosen durch Hitze zu vermeiden, kühlten wir mit physiologischer Kochsalzlösung. Danach erfolgte die Reposition der Fragmente und die Fixation durch eine Plattenosteosynthese.

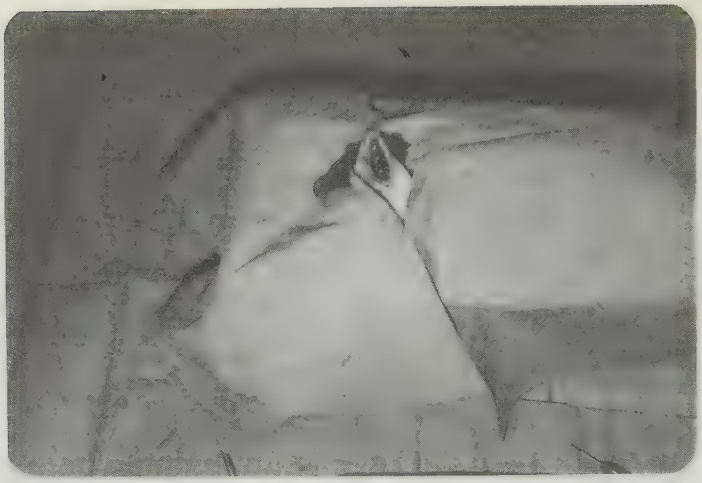

Abb. 2 Femur mit Plattenosteosynthese

Mit einem Spiralbohrer wurden die Fragmente durchbohrt und anschließend, die so entstandenen Löcher, mit einem Gewindeschneider für die Corticalisschrauben erweitert. Um die Platten der Knochenoberfläche anzupassen, wurden sie mit Schränkeisen geformt. Die Plattenosteosynthese wurde mit 4-Loch-Stabilisationsplatten der Firma SYNTHES (SPIESSL, SCHARGUS und SCHROLL (21)) und den dazugehörigen Corticalisschrauben ausgeführt. Nach der Plattenapplikation wurde die Wunde schichtweise vernäht. Das Periost und die Muskulatur wurden mit einer fortlaufenden CATCUT^{R}-, die Haut mit einer fortlaufenden Seidennaht geschlossen und ein flüssiger Wundverband aufgesprüht. Die Fäden konnten nach einer Woche entfernt werden. Auf eine postoperative Antibiotikaprophylaxe wurde verzichtet. Die Wunden heilten ausnahmslos per primam.

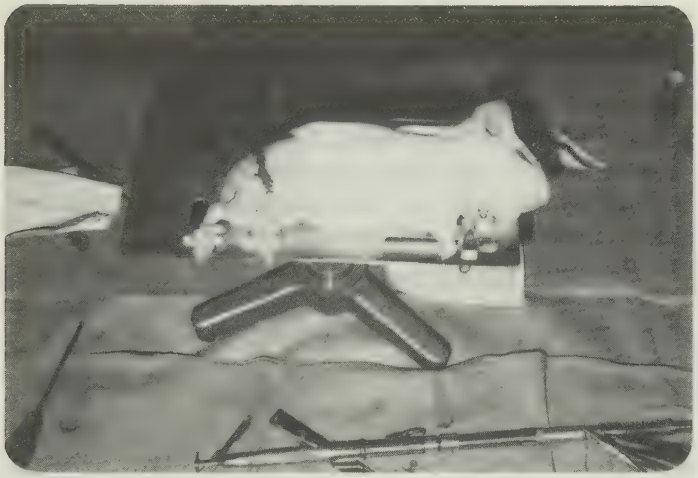

Abb. 3 Operiertes Meerschweinchen nach Wundverschluß

4. Postoperative Nachbehandlung

Die Tiere erwachten 2-3 Stunden nach der Operation aus der Narkose. Während dieser Zeit wurden sie mit Rotlicht bestrahlt um Unterkühlungen zu vermeiden. Zur zeitlichen Bestimmung der Knochenheilung wurden den Tieren wochenweise Fluorochrome intramuskulär injiziert.

Die Farbstoffe gaben wir nach folgendem Schema:

Fluorochrome	Fluoreszenz-farbe	Menge
Tetracyclin (A)	Gelb	15-20mg/kg Körpergewicht
Alizarin (B)	Rot	30mg/kg Körpergewicht
Xylenolorange (C)	Orange	90mg/kg Körpergewicht
Calcein (D)	Grün	20mg/kg Körpergewicht
Caleinblau (E)	Blau	30mg/kg Körpergewicht

Die erste Farbstoffmarkierung erfolgte 2 Wochen nach der Operation und dann jede weitere Woche mit einem anderen Fluorochrom. Lebten die Tiere länger als 6 Wochen, so wurde der Markierungsbeginn um den entsprechenden Zeitraum verschoben.

Markierungstabelle

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I. Kollektiv		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
II.Kollektiv vermehrte Proteingabe		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Versuchsdauer	2 W	A	A	A	A	A					
	3 W		B	B	B	B	A				
	4 W			C	C	C	B	A			
	5 W				D	D	C	B	A		
	6 W					E	D	C	B	A	
	7 W						E	D	C	B	A
	8 W							E	D	C	B
	9 W								E	D	C
	10 W									E	D
	11 W										E

Die Tiere wurden mit Chloroform getötet, die Femura herauspräpariert und von diesen Kontaktröntgenaufnahmen angefertigt.

Nach Stückfärbung in basischem Fuchsin

40% Alkohol	+	0,5% basisches Fuchsin	(3 Tage)
70% "	+	0,5% " "	"
96% "	+	0,5% " "	"
100% "	+	0,5% " "	"

Xylol I. (3 Tage)
Xylol II. (3 Tage)
Methacrylsäuremethylester (3 Tage)

wurden die Knochen nach der Methode von SCHENK (22) in Methylmetakrylat eingebettet.

Zusammensetzung

Methacrylsäuremethylester	:	100 Teile
Phthalsäuredibutylester	:	14 Teile
Polyäthylenglykol 1500	:	25 Teile
Katalysator (Benzylperoxyd)	:	2 Teile

Die Mischung härtete bei 32°C im Trockenschrank aus. Mit einer Mikroknochensäge von HOFER fertigten wir Sägeschnitte in der Längsrichtung des Knochens an. Es wurde eine Schnittdicke von 80µm erzielt.

Die Auswertung erfolgte im Hellfeld und nach Fluoreszenzanregung mit dem LEITZ-ORTHOPLAN-Mikroskop.

C. ERGEBNISSE

1. Allgemeine Aussagen

Innerhalb der einzelnen Kollektive traten keine postoperativen Wundheilungsstörungen auf. Nach Präparation des Femur wurden die Osteosyntheseplatten entfernt und die klinische Festigkeit geprüft. Die Fragmente waren bei allen Präparaten fest knöchern konsolidiert.

2. Röntgenbefunde

Die Kontaktröntgendarstellung der isolierten Knochen ließ die Beurteilung von drei morphologischen Komponenten zu:

1) Stellung der Fragmente zueinander
2) das Ausmaß des gebildeten Kallus
3) die Röntgendichte der Osteotomiestelle

ad 1) Zu einer geringfügigen Stufenbildung in der Längsrichtung der Knochen kam es nur bei einem Präparat.

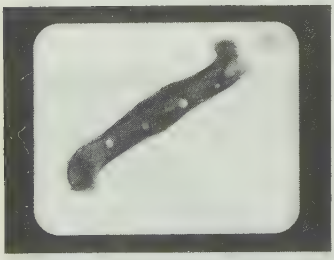

Abb. 4
Kollektiv I
2 Wochen post operationem

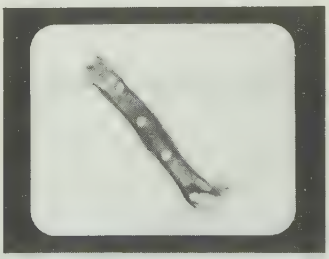

Abb. 5
Kollektiv II
2 Wochen post operationem

ad 2) a) Eiweißreich ernährtes Kollektiv:

Die Kallusbildung ist mäßig und erreicht in der 3. Woche ihr größtes Ausmaß. Von der 5. Woche an ist röntgenologisch die Kompakta subperiostal völlig opak und ohne Auftreibung.

Abb. 6
Kollektiv II
3 Wochen post operationem

Abb. 7
Kollektiv II
5 Wochen post operationem

b) Mit Standardkost ernährtes Kollektiv

Die Kallusbildung scheint größer zu sein. Das Maximum wird in der 4. Woche erreicht. Subperiostal ist die Kompakta nach der 6. Woche gleichmäßig opak und ohne Auftreibung.

Abb. 8
Kollektiv I
4 Wochen post operationem

Abb. 9
Kollektiv I
6 Wochen post operationem

ad 3) Der Osteotomiespalt ist bei beiden Gruppen nur bis zur 4. Woche deutlich sichtbar. Von der 8. Woche an ist er im Röntgenbild nicht mehr nachweisbar.

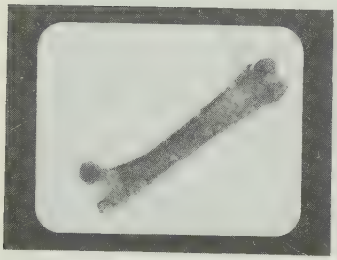

Abb. 10
Kollektiv I
8 Wochen post operationem

Abb. 11
Kollektiv II
8 Wochen post operationem

3. Histologische Auswertung

Die Tiere,der einzelnen Kollektive werden wochenweise nebeneinander besprochen, so daß ein Vergleich beider Heilungsweisen möglich ist.

2. WOCHE

Kollektiv I

Nach 2 Wochen ist das Koagulum bindegewebig organisiert worden. Subperiostal sind Gefäße in den bindegewebigen Kallus eingewachsen, um die herum sich Osteoblasten gebildet haben (Abb 12). Diese produzierten Osteoid, das zu über einem Drittel bereits verkalkt ist. Die Gelbfluoreszenz läßt diesen quantitativen Unterschied gut erkennen (Abb 13). Im Bruchspalt ist eine rege Um- und Anbautätigkeit zu verzeichnen. Um die aussproßenden Gefäße herum haben sich zwei Zellschichten neuer Osteoblasten gebildet. Sie liegen in unterschiedlich stark gelbfluoreszierendem Osteoid eingebettet, so daß sie sich teils schon in Osteozyten umgewandelt haben, teils noch osteoblastisch aktiv erscheinen.

Abb 12 Subperiostale Kalluszone über dem Bruchspalt; Aufnahme:Hellfeld, 42-fache Vergrößerung Kontrollgruppe, 2 Wochen post operationem

Abb. 13 Bruchspalt mit gelbfluoreszierendem Osteoid; Aufnahme: Blaulicht, 140-fache Vergrößerung Kontrollgruppe, 2 Wochen post operationem

Kollektiv II

Der Kallus erscheint nicht ganz so dick wie bei der Vergleichsgruppe (Abb 14). Man sieht deutlich, daß der Anteil an gelbfluoreszierendem neugebildeten, bereits verknöcherten Osteoid wesentlich größer ist, als bei der Kontrollgruppe. Es erreicht mindestens 50% der gesamten subperiostalen Kalluspartie. Auch in der Spongiosa ist die Verkalkung weiter fortgeschritten, als bei den Kontrolltieren, da man Osteozyten in gelbfluoreszierender Knochensubstanz liegen sieht. Im ganzen Präparat fällt die vermehrte Gefäßzeichnung auf, die zu einer dichteren Osteoideinlagerung geführt hat (Abb. 15,16).

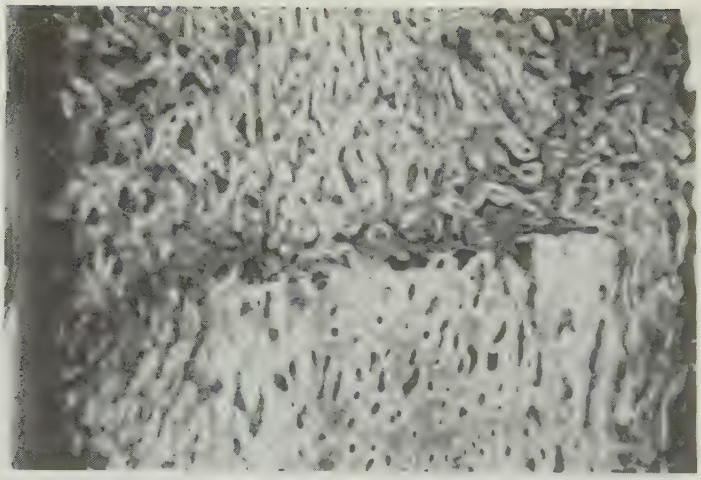

Abb. 14 Bruchspalt mit geringer subperiostaler Kallusbildung;
Aufnahme: Hellfeld, 49-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 2 Wochen post operationem

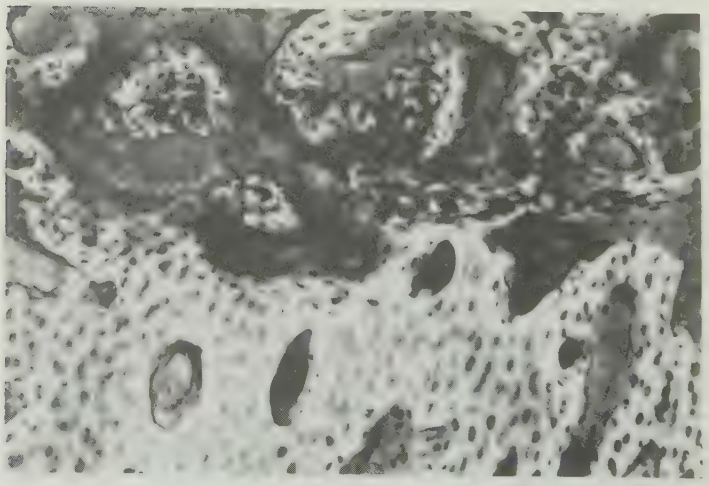

Abb. 15 Bruchspalt mit Gefäßen und Osteoblasten;
Aufnahme: Hellfeld, 224-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 2 Wochen post operationem

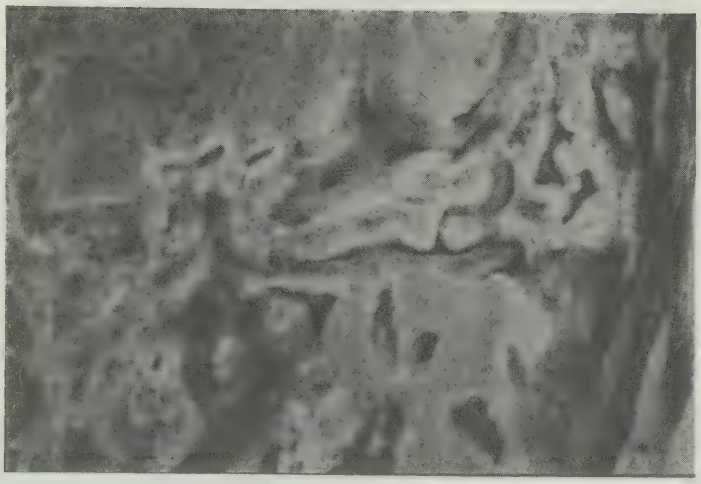

Abb. 16 Geringe Kallusmenge an Druckseite und zahlreiche Osteone;
Aufnahme: Blaulicht, 154-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 2 Wochen post operationem

3. WOCHE

Kollektiv I

Der Kallus hat weiter an Masse zugenommen (Abb.17). Man sieht jetzt neben gelb- auch rotfluoreszierende Anteile, so daß zwei Zellagen in gelbfluoreszierendem und zwei in rotfluoreszierendem Osteoid liegen (Abb. 18). In der Spongiosa ist die Knochenneubildung ähnlich. In manchen Arealen sind mehr Osteozyten in rotfluoreszierenden, als in gelbfluoreszierenden Arealen enthalten.

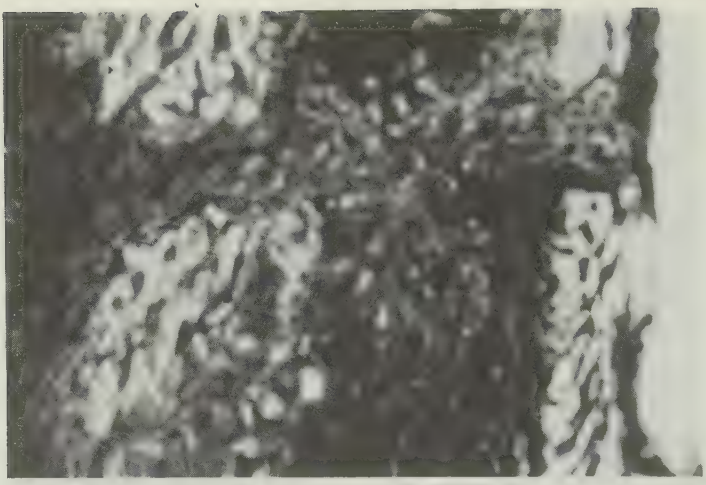

Abb. 17 Kallusmenge über dem Bruchspalt;
Aufnahme: Hellfeld, 49-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 3 Wochen post operationem

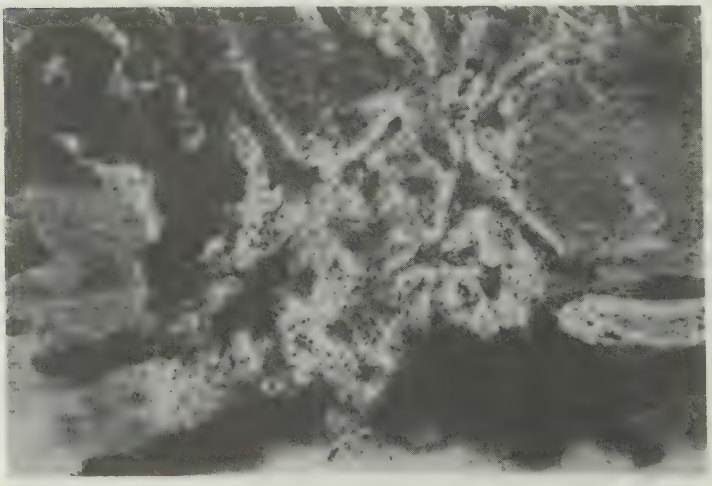

Abb. 18 Kallus mit gelb- und rotfluoreszierendem Osteoid;
Aufnahme: Blaulicht, 168-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 3 Wochen post operationem

Kollektiv II
Es besteht ein deutlicher quantitativer Unterschied in der Kallusmenge gegenüber den Kontrolltieren (Abb. 19). Trotz der geringen Kallushöhe ist er wesentlich stärker kalzifiziert worden. Hier gibt es höchstens noch 30% nicht fluoreszierender Knochensubstanz. Der Anteil der Gelbfluoreszenz überwiegt leicht gegenüber der Rotfluoreszenz (Abb. 20)

Abb. 19 Kallusmenge über dem Bruchspalt;
Aufnahme: Hellfeld, 35-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 3 Wochen post operationem

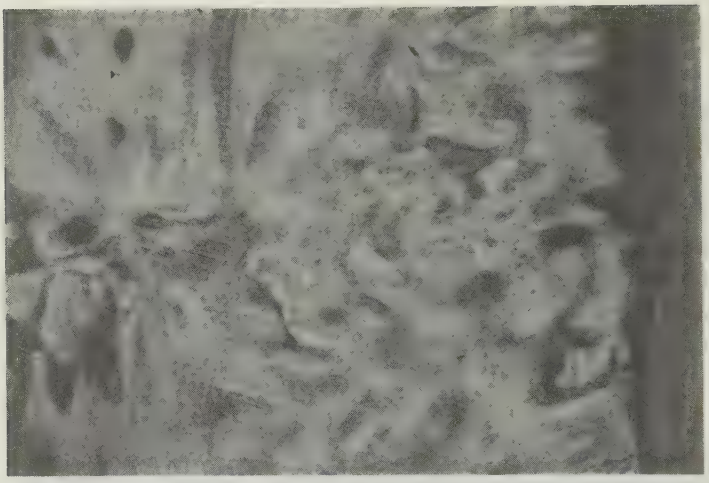

Abb. 20 Kallus mit zahlreichen gelb- und rot-fluoreszierenden Arealen;
Aufnahme: Blaulicht, 140-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 3 Wochen post operationem

4. WOCHE

Kollektiv I

Bei den Kontrolltieren sieht man gleichmäßig auf beiden Seiten eine mäßig dicke Kallusauflagerung, die gut fluorochromiert ist. Auch hier überwiegt wieder die gelbe Farbe, so daß nur wenig rot und fast kein orange zu erkennen ist. Die Kortikalis ist besonders gut fluorochromiert (Abb. 21). Im Gegensatz zur vorigen Woche bemerkt man endostal neben dem Bruchspalt, eine zwei Osteozyten breite, bandartige, gelbfluoreszierende Zone. Auf einem anderen Schnitt ist ein erheblich größerer Kallusanteil, sowie eine schmale orange gefärbte Zone im Bruchspaltbereich vorhanden.

Abb. 21 Kortikalis;
Aufnahme: Blaulicht, 120-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 4 Wochen post operationem

Kollektiv II

Bei den Eiweißpräparaten der 4. Woche ist die Fluoreszenzmenge größer, als bei den Kontrolltieren. Dies zeigt sich besonders deutlich direkt über dem Bruchspalt. Man sieht hier den Beginn eines subperiostalen orangefarbenen Bandes, das jedoch nicht bis zum Bruchspalt zieht, sondern kurz davor endet. Innerhalb der Spongiosa ist eine stärkere orange und rote Fluoreszenz zu erkennen. (Abb. 22)

Abb. 22 Kallus an den Kortikalisenden;
Aufnahme: Blaulicht, 140-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 4 Wochen post operationem

5. WOCHE

Kollektiv I

In der 5. Woche ist bei den Kontrolltieren die Kallushöhe im Vergleich zu den vorangegangenen Wochen reduziert. Der ganze Bruchspalt fluoresziert im Kallusbereich, wobei erstmals eine Grünfluoreszenz sichtbar ist. Sie erscheint aber mehr subperiostal, als direkt im Spaltbereich. Das diffuse Fluorochrom der ersten Wochen wird langsam durch bandartige, insbesondere um die Osteone gelagerte Zonen, abgelöst (Abb 23,24). Hier dominieren jetzt grünfarbige Bänder.

7. WOCHE

Kollektiv I
Man sieht jetzt zum ersten Mal im Bereich des Kallus deutlich gelbe, rote, grüne bzw. orangene Bänder (Abb. 27). Während im Bruchspaltbereich die gelbe Farbe deutlich überwiegt, ist in den Kalluszonen daneben eine starke Grüneinlagerung zu bemerken.

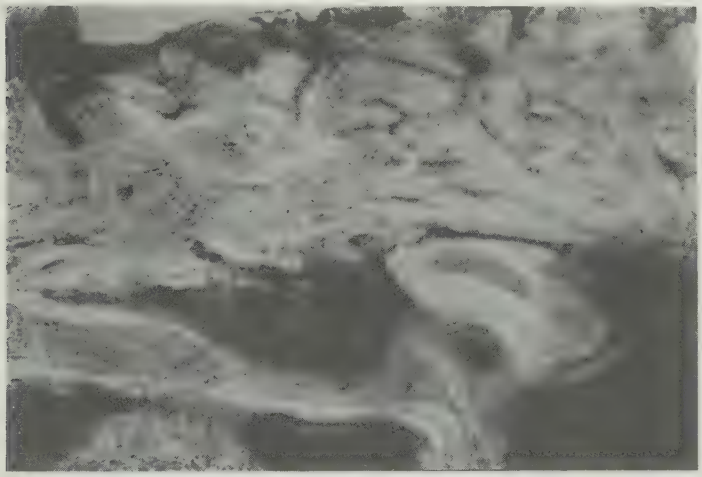

Abb. 27 Aufnahme: Blaulicht, 140-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 7 Wochen post operationem

Im Bruchspaltbereich, wie im Kallusbereich ist bei den Kontrolltieren der 7. Woche zunehmend Lamellenknochen entstanden, der sich von der 3. Woche an als gelb-fluoreszierende Bänder darstellt. Die breite Masse des neugebildeten Knochens ist diffus gelb markiert und dadurch als Geflechtknochen charakterisiert (Abb. 28). Nur wenige rote und orangene Bänder sind zu erkennen, dagegen mehrere grüne.

6. WOCHE

Kollektiv I

Hier erscheint bei den Kontrolltieren im Kallus zum ersten Mal deutliche Rotfluoreszenz. Eine Grünemission ist kaum zu finden, dafür umso mehr gelb.
Die subperiostale Kallusbegrenzung ist durch eine vermehrte Resorption höckerig konfiguriert (Abb. 26).

Abb. 26 Aufnahme: Blaulicht, 224-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 6 Wochen post operationem

Kollektiv II

Durch verstärkte Resorption hat sich der Kallus weiter abgebaut.
Die Fluoreszenz wird deutlich weniger.

Kollektiv II

Nach 5 Wochen ist bei den mit Eiweiß behandelten Tieren der Kallus nur noch schmal,zum Teil nur an den senkrecht zur Knochenachse liegenden Osteonen erkennbar (Abb. 25). Der Bruchspalt ist im Kortikalisbereich komplett durchfluorochromiert, wobei die gelbe Farbe überwiegt. Bei diesen Tieren sieht man nach 5 Wochen, wenn auch reduziert, eine deutlich größere Kallusmenge, die erstaunlicherweise gelb fluoresziert. Rote Farbe ist kaum noch zu sehen, dafür etwas orange und an wenigen Stellen grün. Das heißt, die Haupteinlagerung von Fluorochromen findet bereits in der ersten postoperativen Woche statt. Bei den Eiweißpräparaten sieht man schon in der 5. Woche geringe Resorptionserscheinungen.

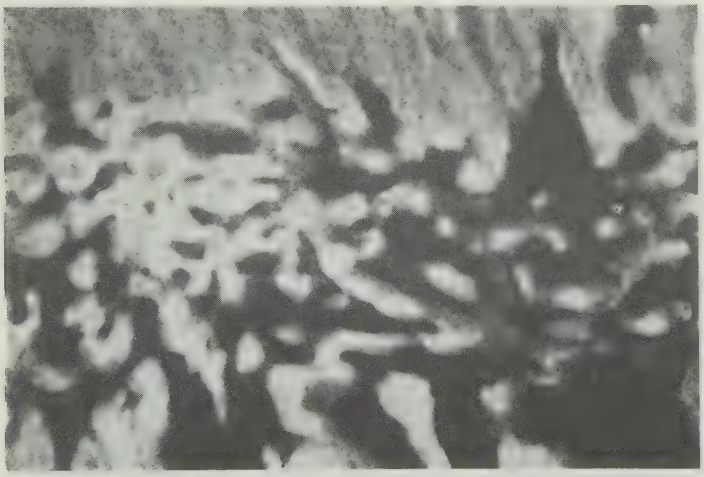

Abb. 25 Aufnahme: UV-Licht, 162-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 5 Wochen post operationem

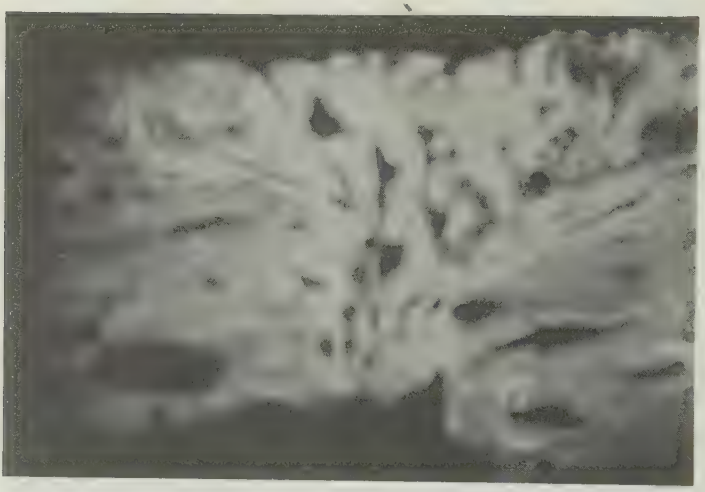

Abb. 23 Aufnahme: Blaulicht, 95-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 5 Wochen post operationem

Abb. 24 Aufnahme: Blaulicht, 112-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 5 Wochen post operationem

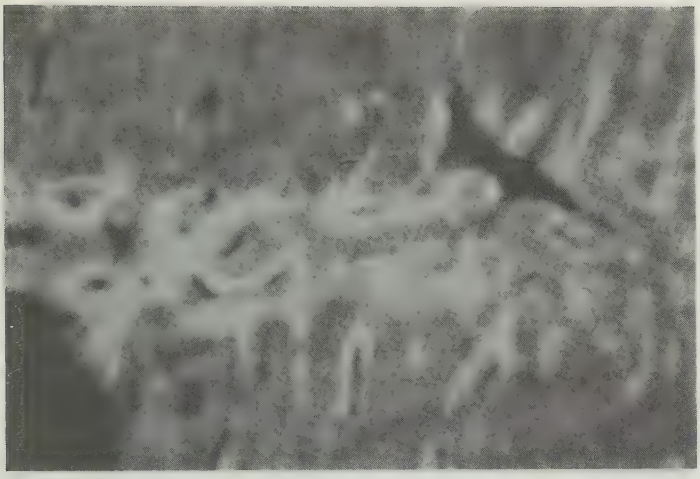

Abb. 28 Aufnahme: Blaulicht, 124-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 7 Wochen post operationem

Kollektiv II
Der Kallus ist stark reduziert worden. Man sieht in diesem Präparat viel Orange- und Rotfluoreszenz. Es zeigt sich, daß der Kallus jetzt hauptsächlich im Bruchspaltbereich fluorochromiert ist (Abb.29). Weiter davon entfernt ist keine Fluoreszenz mehr vorhanden. Proximal vom Kallus sind subperiostal Rot- und Grünbänder entstanden.

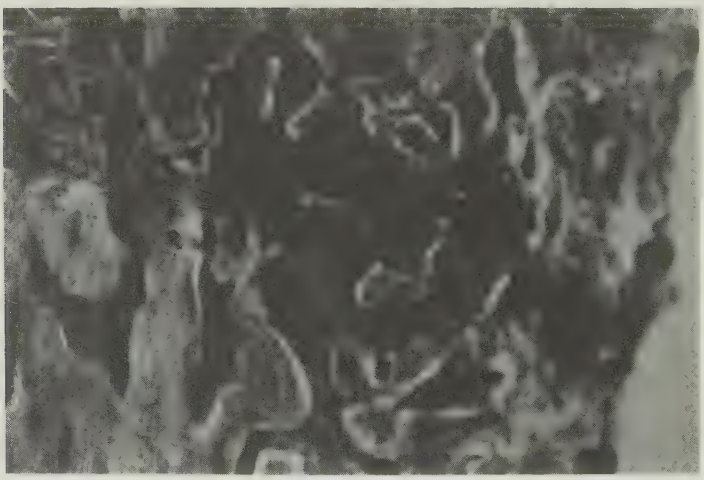

Abb. 29 Aufnahme: Blaulicht, 154-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 7 Wochen post operationem

8. WOCHE

Kollektiv I

Bei den Kontrollen überwiegt die Grünfluoreszenz, die meist bandartig um die Gefäße auftritt. Der Bruchspalt selbst ist kaum noch erkennbar. Außer einer Grün- kann man noch eine Orangefluoreszenz feststellen, jedoch sind diese Markierungen ausschließlich perivaskulär angeordnet, bis auf eine endostale Zone, die grün und orange fluoresziert. Gelbe Farbe ist überhaupt nicht zu sehen.

Kollektiv II

In der Eiweißgruppe ist der Bruchspaltbereich eindeutig gelb fluorochromiert, daß heißt, in der 4. Woche sind Tetracycline eingelagert worden, die zum Teil bandartig, zum Teil aber auch noch verwaschen im Bruchspaltbereich liegen. Im Kallus sieht man orangene, rote und grüne Bänder (Abb. 30). Der Kallus ist nur noch sehr schmal und zeigt Resorptionszonen. Viele Gefäße verlaufen vom Periost aus in den Kallus, die entsprechend mit gelben oder hauptsächlich grünen Bänder umrandet sind.

Abb. 30 Aufnahme: Blaulicht, 154-fache Vergrößerung
Eiweißgruppe, 8 Wochen post operationem

9. WOCHE

Kollektiv I

In der 9. Woche kann man zwar noch den Bruchspalt durch die querverlaufenden neuen Osteone erkennen, aber er ist kaum fluorochromiert und dann hauptsächlich grün (Abb. 31)

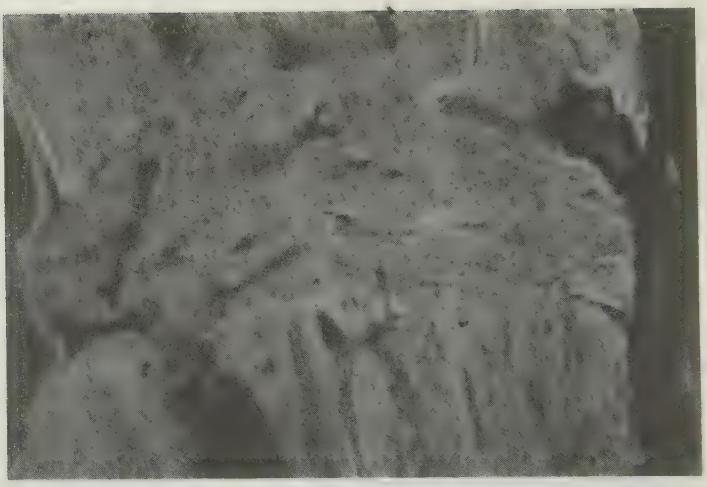

Abb. 31 Bruchspaltbereich
Aufnahme: Blaulicht, 182-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 9 Wochen post operationem

Kollektiv II
Hier zeigt sich das gleiche Erscheinungsbild wie bei den Kontrolltieren, man findet kaum noch Fluoreszenzzonen. Die wenigen noch sichtbaren sind grün gefärbt.

10. WOCHE

Kollektiv I
Bei den Kontrolltieren der 10. Woche sieht man endostal vorwiegend ein grünes und ein orangenes Band. Ein Bruchspalt ist nicht mehr verifizierbar. Es ist nur noch eine geringe Grünfluoreszenz zu sehen.

Kollektiv II
Bei den Eiweißtieren sieht man jetzt deutlich, daß endostal außer einem grünen Band auch ein orangenes Band vorhanden ist. Subperiostal ist auf einer Seite, an einem Knochenende Grünfluoreszenz in bandartiger Form festzustellen.

11. WOCHE

Kollektiv I
Nach 11 Wochen hat die Markhöhle den Bruchspaltbereich wieder vollkommen ausgefüllt. Nur in der Kortikalis ist am quer zur Längsachse verlaufenden Knochen der ehemalige Osteotomiespalt zu verifizieren (Abb. 32).

Abb. 32 Bruchspaltbereich kaum mehr erkennbar;
Aufnahme: Hellfeld, 42-fache Vergrößerung
Kontrollgruppe, 11 Wochen post operationem

Kollektiv II
Hier finden sich analoge Befunde wie in dem I. Kollektiv.
Der Bruchspalt ist kaum noch zu lokalisieren und Fluoreszenzbänder sind nicht mehr nachweisbar.

D. DISKUSSION

Zweck der vorliegenden Arbeit war es, durch histologische Vergleichsuntersuchungen festzustellen, ob die Heilung osteotomierter Knochen durch vermehrte Proteingaben beschleunigt werden kann.
Bei beiden Kollektiven ist die Osteotomiestelle nach 12 Wochen vollständig knöchern regeneriert. Die Verknöcherung erfolgt in den ersten beiden Wochen überwiegend von subperiostal her, und ist durch vermehrt subperiostal liegende Fluorochrommarkierungsringe erkennbar. Gleichzeitig mit dem subperiostalen Heilungsvorgang setzt von endostal eine Osteoidabscheidung ein, die allerdings in ihrem quantitativen Ausmaß wesentlich geringer erscheint.
Die Osteoidabscheidung erfolgt durch die Bildung "primärer" Knochenzellen in direktem Gefolge der einsprossenden Gefäße. Das Osteoid verkalkt anschließend.
KROMPECHER (24) bezeichnet dies als "Angiogene Knochenbildung".
Der Heilungsvorsprung kann bei der Gruppe mit Eiweißüberschuß in der Nahrung im Vergleich zur Gruppe mit normalem Eiweißgehalt, während der ersten 5 bis 6 Wochen festgestellt werden. Die deutlichsten Regenerationsfortschritte findet man 2 bis 4 Wochen post operationem.
Die Heilungsvorgänge der ersten beiden postoperativen Wochen sind durch die Ausbildung von Gefäßen und Zellen gekennzeichnet. Diese Strukturen nahmen den Raum ein, der durch das unmittelbar nach der Osteotomie entstandene Blutkoagulum präformiert wurde. Während dieser Zeit wird das postoperative Hämatom, das die Regeneration eingeleitet, fast vollständig in bindegewebigen Kallus umgewandelt. Entlang der einsprossenden Gefäße reihen sich Osteozyten auf, die einen gelben Reverinfluorochromsaum abscheiden.

Von der 6. Woche an ist der Kallus vollkommen verknöchert und die bisher senkrecht laufenden Gefäße formen sich zu den parallel zur Knochenoberfläche verlaufenden Gefäßen des endgültigen Lamellenknochens um. Daneben findet sich bei sehr gut adaptierten Osteomiefragmenten, bei denen der Bruchspalt nur kapillare Ausmaße erreicht, eine direkte Ausbildung von Lamellenknochen. An diesen Stellen wachsen fragmentinterne Gefäße über den Spalt hinweg. Die Gefäße verlaufen nahezu senkrecht zur Osteotomielinie. Die sie begleitenden Osteozyten scheiden bandförmig das fluorochromierte Osteoid ab.
Nach 12 Wochen ist der Heilungsvorgang abgeschlossen.

Traumen und chirurgische Eingriffe führen zu großen Eiweißverlusten des Organismus, wie dies in der Literatur mehrfach beschrieben wurde (1, 2, 5, 7). In solchen Fällen ist daher eine ausreichende Zufuhr von Eiweiß eine unerläßliche therapeutische Maßnahme. MADDEN und WHIPPLE (10) empfehlen zur Stabilisierung des Eiweißstoffwechsels entrahmtes Milchpulver mit 37% Proteingehalt zu verabreichen. HAM (24) zeigt in einer Anzahl von Versuchen, daß die Beschaffenheit der kallusbildenden Zellen von physiologischen und biochemischen Gegebenheiten während des Zeitraumes der Frakturheilung abhängt. Bei seinen Versuchen,die er an den Rippen und langen Röhrenknochen (Femura) von Kaninchen durchführte, weist er als einer der ersten darauf hin, daß die Ausdifferenzierung der von ihm als "osteogene cells" bezeichneten Abkömmlinge der mit osteogener Potenz ausgestatteten Knochenteile - Periost und Endost - beeinflußt wird; und zwar durch die am Entstehungsort vorherrschende Vaskularisierung.

Das heißt, diese Zellen differenzieren sich bei hoher Gefäßdichte und somit guter Sauerstoffversorgung in Osteoblasten, bei sehr geringer oder fehlender Sauerstoffversorgung in Chondroblasten.

Bei den untersuchten Präparaten kam es in keinem Fall zu einer chondralen Kallusbildung. Die chondrale Kallusbildung erfolgt wie oben beschrieben aus denselben osteogenen Zellen. Durch eine ungenügende Ruhigstellung der Fragmente zerreißen die äußerst zarten Kapillarsproßen im Spalt. Dadurch kommt es zu einer mangelhaften Sauerstoffversorgung und zur Differenzierung von osteogenen Zellen zu Knorpelzellen. Die von uns durchgeführten Osteotomien mit anschließender Fixierung durch Stabilisationsplatten zeigten ausschließlich das Bild der "angiogenen Knochenbildung" (KROMPECHER 24).
Die Kallusbildung bei erhöhtem Eiweißangebot (Kollektiv II) ist quantitativ im Vergleich zur Normalgruppe geringer; qualitativ unterscheidet sie sich durch ein dichteres Gefäßnetz und damit durch eine vermehrte Einwanderung osteogener Zellen.
HARTIG (7) weist daruf hin, daß als Folge eines Eiweißmangels, neben anderen Störungen im Organismus auch eine verminderte Zellneubildung auftritt. Dies wirkt sich nicht zuletzt auch auf den Heilungsverlauf von Frakturen aus.
DARGEL et al. (26) konnten durch eine Erhöhung der Nahrungsproteine eine Steigerung des Phospholipidgehalts im Knochen feststellen. Durch die Verminderung des Phospholipidgehalts im Knochen wird die Permeabilität der Knochenzellmembran und die Aktivität der Osteozytenmitochondrien, also insgesamt der Knochenstoffwechsel ungünstig beeinflußt.

Die Phospholipidsynthese im Knochen wird durch Aminosäurenmangel vermindert.

Die exakte quantitative Eiweißaufnahme der Tiere könnte nur in einem Stoffwechselkäfig, an Hand der Stickstoffbilanz überprüft werden. Dies war uns aus versuchstechnischen Gründen nicht möglich. Deshalb ist im Tierversuch, speziell bei Nagetieren, darauf zu achten, daß eine Darreichungsform gefunden wird, die einen standartisierten hohen Eiweißgehalt, mit genügend Ballaststoffen enthält. Außerdem sollte die eiweißangereicherte Kost geschmacklich nicht vom Standartfutter abweichen. Dies könnte Thema einer weiteren Arbeit sein.
Daß eine genügend große Menge an eiweißreichem Futter aufgenommen wurde kann am Heilungsvorsprung des Kollektivs II durch unsere röntgenologischen und histologischen Ergebnisse festgestellt werden.

Der Versuch zeigte, daß durch eine vermehrte Eiweißzufuhr innerhalb der ersten Wochen, nach Traumen und operativen Eingriffen eine günstigere Heilungstendenz erreicht werden kann.

E. ZUSAMMENFASSUNG

An 30 Meerschweinchen wurde am rechten Femur eine Osteotomie durchgeführt und die Fragmente mit einer Osteotomieplatte ohne Druck vereinigt. Postoperativ wurden die Tiere in zwei Gruppen aufgeteilt. Kollektiv I erhielt eine standardisierte Nahrung mit 16% Proteingehalt, der Eiweißgehalt des Kollektiv II wurde auf 40% angehoben.

Zielsetzung war, die Regenerationsvorgänge der beiden Kollektive durch röntgenologische, Hellfeld- und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zu vergleichen.
Die Heilungsfortschritte wurden wochenweise verfolgt. Der Versuch zeigte, daß der zeitliche Ablauf der Knochenregeneration, durch vermehrtes Eiweißangebot im Futter, beschleunigt wird. Dies war vor allem in den ersten 4 Wochen sichtbar, als bei dem Kollektiv II der Kallus quantitativ geringer und wesentlich besser vaskularisiert war und dadurch schneller und direkter verknöcherte.
Nach 12 Wochen war der Heilungsvorsprung des Kollektiv II ausgeglichen und in beiden Gruppen der Umbau der gebildeten Strukturen, in lamellären Knochen, fast vollständig abgeschlossen.

Nach den vorliegenden Untersuchungen ist, neben einer entsprechenden Causaltherapie, die Beschleunigung der Frakturheilung, durch eine Erhöhung des Proteingehalts in der Nahrung, in den ersten Wochen zu erwarten.

LITERATURVERZEICHNIS

1 CLARK, A.H

The effect of diet on the healing wounds. Bull Johns Hopk. Hosp. 30 (1919) 338

2 KOSTER, H., L.P. Kasman

Relation of serum protein to well healed and to disrupted wounds. Arch. Surg. 45 (1942)776

3 G. SCHARGUS, F.SCHRÖDER, E.HERREINER

Histologische Untersuchungen der Knochendefektheilung unter dem Einfluß verschieden eiweißhaltiger Kost. in: Fortschritte der Kiefer- und Gesichts-Chirurgie. Ein Jahrbuch herausgegeben von Karl Schuchardt, Band XXI: (312,312)

4 BILLO, H

Untersuchungen über die Regeneration von Knochendefekten am Femur des Meerschweinchens nach vermehrter Eiweißgabe Inaug. Diss. Würzburg 1976

5 THORNTON jr., T.F., W.E.ADAMS, P.W.SCHAFER

Hypoproteinemia in Thoracic surgery: A clinical study. Surg. Gynec. Obstet. 79 (1944) 368

6 BROWNE, J.S.L., V.SCHENKER, J.A.F.STEVENSON

Some metabolic aspects of damage and convalescence. J. clin. Invest. 23 (1944) 932

7 HARTIG, W.

Ernährung des Patienten im Stress Zentralbl. Chir., 99, 577-586 (1974)

8 CUTHBERTSON, D.F.

Further observationson the disturbance of metabolism caused by injury, with particular reference to the dietary requirements of fracture cases. Brit. J. Surg. 23 (1936) 505

9 FÜRST, P., JOSEPHSON, B., VINNARS, E.

Die Aufnahme von ^{15}N im Muskeleiweiß von einem Patienten in katabolem Zustand. Anaesthesiologie und Wiederbelebung (Eds. K.Lang, R.Frey, M.Halmagyi) Bd.58 Berlin - Heidelberg - New York: Springer 1973

10 MADDEN, S.C., G.H. WHIPPLE

Plasma proteins, their source, production and utilization. Physiol. Rev. 20 (1940) 194

11 ELMAM. R.

Time factor in retention of nitrogen after intravenous injection of a mixture of amino acids. Proc. Soc. Exper. Biol. 40, 484, (1939)

12 BELOUS, A.M., PANKOV, E.Y.

Structural and morphological features of bone tissue regeneration under the influence of RNA.
Ortop. Traum. Protez. 8, 14 (1966)

13 ALLEN, J.A., HARRISON, T.J.

The effect of amino-acetonitrile on rib regeneration.
J.Anat. 104, 180 (1969)

14 FANTATO, S.

Experimental research on the action of ATP phosphocreatine in the osteogenesis of fracture callus.
Minerva Orthop. 18, 206 (1967)

15 MILLST, J., DAVIS, H., BROADHURST, B.W.

The use of the whole bone extract in the treatment of fractures.
Manitoba med. Rev. 45, 92 (1965)

16 MOSS, M., KRÜGER, G.O., REXNOLDS, D.C.

The effect of chondroitinsulfate on bone healing.
Oral Surg. 20, 795 (1965)

17 CURRI, S.B., CAMPAILLA, E.

Hyaluronic acid and osteogenesis: Its influence on embryonal growth and on development of bone callus.
Clin. Orthop. 18, 433 (1966)

18 MAZHUGA, P.M., BATYUK, I.F.

Osteogenesis and possibilities of its stimulation.
Acta morph. Acad. Sci. Hung. 15, 317 (1967)

19 SCHOTT, G.-M., SCHRÖDER, F., MAIWALD, L.

Einfluß der Nahrung auf die Frakturheilung.
In: Fortschritte der Kiefer- und Gesichts-Chirurgie.
Ein Jahrbuch herausgegeben von Karl Schuchardt.

Band XIX: Die operative Behandlung der Verletzungen des Gesichtsschädels 32-33, Stuttgart: Thieme Verlag 1975

20 KASTENBAUER, E.R., REICHERT, R.

Zur Narkosetechnik von Laboratoriumstieren.
Z. Laryng. Rhinol. 52. 170 (1973)

21 SPIESSL, B., SCHARGUS, G., SCHROLL, K.

Die stabile Osteosynthese bei Frakturen des unbezahnten Unterkiefers.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 81, 39 (1971)

22 SCHENK, R.

Zur histologischen Verarbeitung von unentkalkten Knochen.
Acta anat. 60, 3 (1965)

23 HERREINER, E.

Histologische Untersuchungen über den Einfluß verschieden eiweißhaltiger Nahrung auf die Heilung künstlicher Knochendefekte an Meerschweinchenfemora.
Dissertation Würzburg (1976)

24 KROPECHER, S.

Die Knochenbildung
Fischer, Jena (1937)

25 HAM, A.W.

Histological study of early phases
of bone repair.
J. Bone Joint Surg. 12, 827 (1930)

26 DARBEL, D., HOCK, A., BUSCH, S.

Über den Einfluß des biologischen Wertes
des Nahrungsproteins auf Phospholipide
des Knochens.
Nahrung 17, 517-525 (1973)

Für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die Übernahme des Referates möchte ich Herrn Prof. Dr. G. Schargus meinen herzlichen Dank aussprechen.

Für die Übernahme des Korreferates danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. J. Reuther.

Lebenslauf

Name	Roland Leistner
geb. am	11. Juni 1948
Geburtsort	Rotthalmünster
Eltern	Dr.med.vet. Eberhard Leistner Ingeborg Leistner, geb. Rost
Besuch der Volksschule Rotthalmünster	von September 1954 bis Juli 1958
Reifeprüfung am Landschulheim Schloß Ising am Chiemsee	Juli 1967
Studium der Tiermedizin in München	von WS 1967/68 bis SS 1970
Studium der Zahnheilkunde in Würzburg mit Abschluß durch Staatsexamen	vom WS 1970/71 bis SS 1975
Approbation als Zahnarzt	18. August 1975
Stabsarzt bei der Fliegerhorstgruppe in Leipheim/Donau	von Dezember 1975 bis Februar 1977
Assistenzarzt in der Praxis J.A. Fittschen, Esslingen	von März 1977 bis April 1979
Praxiseröffnung in Markt Schwaben	am 5. Juni 1979

Roland Leistner

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80